



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : C08B 37/16, A61K 47/48		A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 95/19994 (43) Date de publication internationale: 27 juillet 1995 (27.07.95)
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR95/00075</p> <p>(22) Date de dépôt international: 24 janvier 1995 (24.01.95)</p> <p>(30) Données relatives à la priorité: 94/00778 25 janvier 1994 (25.01.94) FR</p> <p>(71) Déposants (<i>pour tous les Etats désignés sauf US</i>): COMMIS-SARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE [FR/FR]; 31-33, rue de la Fédération, F-75008 Paris (FR). CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) [FR/FR]; 3, rue Michel-Ange, F-75794 Paris Cédex 16 (FR).</p> <p>(72) Inventeurs; et</p> <p>(75) Inventeurs/Déposants (<i>US seulement</i>): DEFAYE, Jacques [FR/FR]; 202, chemin du Vercors, F-38330 Saint-Ismier (FR). PERLI, Bruno [FR/FR]; 7, rue Auguste-Bernard, F-78320 La Verrière (FR). GADELLE, Andrée [FR/FR]; 23, hameau Fleuri, F-38330 Montbonnot (FR). DESCAMPS, Valérie [FR/FR]; Les Guichards, F-38410 Vaulnaveys-le-Haut (FR). COSTE SARGUET, Annie [FR/FR]; 86, rue de Belfort, F-25000 Besançon (FR).</p> <p>(74) Mandataire: BREVATOMÉ; 25, rue de Ponthieu, F-75008 Paris (FR).</p>		<p>(81) Etats désignés: JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale. Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.</i></p>	
<p>(54) Title: METHOD FOR SOLUBILISING ANTITUMORAL AGENTS FROM THE TAXOL FAMILY IN AN AQUEOUS MEDIUM, AND BRANCHED CYCLODEXTRINS THEREFOR</p> <p>(54) Titre: PROCEDE DE SOLUBILISATION DANS UN MILIEU AQUEUX D'AGENTS ANTITUMORAUX DE LA FAMILLE DU TAXOL, ET CYCLODEXTRINES RAMIFIEES UTILISABLES POUR CETTE SOLUBILISATION</p> <p>(57) Abstract</p> <p>A method for solubilising antitumoral agents from the taxol family in an aqueous medium, and branched cyclodextrins therefor. According to the method, the antitumoral agent is combined with a branched cyclodextrin of formula (I), wherein n is 6, 7 or 8 and R¹ is OH or SR², where R² is preferably an α-maltosyl or β-maltosyl group, and at least one R¹ is SR².</p> <p>(57) Abrégé</p> <p>L'invention concerne un procédé de solubilisation dans un milieu aqueux d'agents antitumoraux de la famille du taxol, et des cyclodextrines ramifiées utilisables pour cette solubilisation. Ce procédé consiste à combiner cet agent antitumoral avec une cyclodextrine ramifiée de formule (I) dans laquelle n = 6, 7 ou 8, R¹ = OH ou SR², avec R² représentant de préférence le groupe α-maltosyle ou β-maltosyle, l'un au moins des R¹ représentant SR².</p>			
<p style="text-align: right;">(I)</p>			

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publient des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	GB	Royaume-Uni	MR	Mauritanie
AU	Australie	GE	Géorgie	MW	Malawi
BB	Barbade	GN	Guinée	NE	Niger
BE	Belgique	GR	Grèce	NL	Pays-Bas
BF	Burkina Faso	HU	Hongrie	NO	Norvège
BG	Bulgarie	IE	Irlande	NZ	Nouvelle-Zélande
BJ	Bénin	IT	Italie	PL	Pologne
BR	Brésil	JP	Japon	PT	Portugal
BY	Bélarus	KE	Kenya	RO	Roumanie
CA	Canada	KG	Kirghizistan	RU	Fédération de Russie
CF	République centrafricaine	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CG	Congo	KR	République de Corée	SE	Suède
CH	Suisse	KZ	Kazakhstan	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SK	Slovaquie
CM	Cameroun	LK	Sri Lanka	SN	Sénégal
CN	Chine	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CS	Tchécoslovaquie	LV	Lettonie	TG	Togo
CZ	République tchèque	MC	Monaco	TJ	Tadjikistan
DE	Allemagne	MD	République de Moldova	TT	Trinité-et-Tobago
DK	Danemark	MG	Madagascar	UA	Ukraine
ES	Espagne	ML	Mali	US	Etats-Unis d'Amérique
FI	Finlande	MN	Mongolie	UZ	Ouzbékistan
FR	France			VN	Viet Nam
GA	Gabon				

PROCEDE DE SOLUBILISATION DANS UN MILIEU AQUEUX
D'AGENTS ANTITUMORAUX DE LA FAMILLE DU TAXOL, ET
CYCLODEXTRINES RAMIFIEES UTILISABLES POUR CETTE
SOLUBILISATION

5 L'invention a pour objet un procédé de solubilisation dans un milieu aqueux d'agents antitumoraux de la famille du taxol.

Le taxol, composé d'interpénique issu de l'if (Taxus spp), et un certain nombre de ses dérivés dont 10 notamment le Taxotère qui est obtenu par hémisynthèse en partant d'un précurseur naturel du taxol, appartiennent à l'une des familles les plus prometteuses d'agents antitumoraux, comme il est décrit notamment par P. Potier dans Chem. Soc. Rev., 15 21, 1992, p. 113-119 et par M.C. Bissery et al dans Cancer Research, 51, 1991, p. 4845-4852. Le Taxotère est présentement en phase II d'expérimentation clinique en Europe et aux Etats-Unis.

L'un des problèmes que posent ces composés, 20 concerne leur faible solubilité dans l'eau et les fluides biologiques, ce qui limite considérablement leurs possibilités d'administration clinique, notamment par injection parentérale. A titre 25 d'exemple, le taxol a une solubilité dans l'eau inférieure à 0,004 mg/ml, et celle du Taxotère est à peine plus élevée.

Pour résoudre ce problème, Nicolaou et al. ont décrit très récemment dans Nature, 364, 1993, 30 p. 464-466, des dérivés du taxol dénommé "protaxols", plus solubles dans l'eau qui seraient susceptibles de libérer le taxol dans des conditions physiologiques.

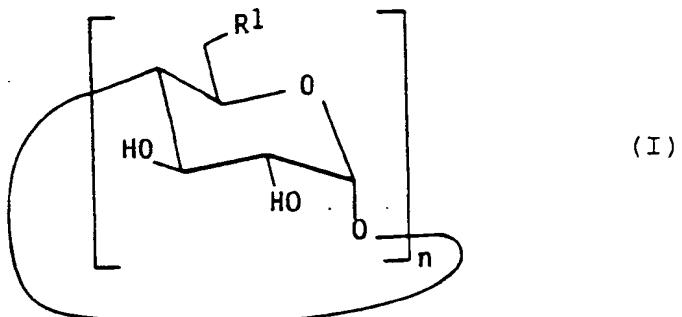
Une autre approche pour résoudre ce problème, qui fait justement l'objet de la présente invention, a été de trouver des molécules appropriées présentant 35 une solubilité élevée dans un milieu aqueux qui soient

susceptibles de se combiner avec le taxol et ses dérivés pour les solubiliser dans un milieu aqueux.

La présente invention a précisément pour objet un procédé de solubilisation dans un milieu aqueux 5 d'agents antitumoraux de la famille du taxol, utilisant dans ce but des cyclodextrines ramifiées.

Selon l'invention, le procédé de solubilisation dans un milieu aqueux d'un agent antitumoral appartenant à la famille du taxol et de 10 ses dérivés, consiste à combiner cet agent antitumoral avec une cyclodextrine ramifiée de formule :

15

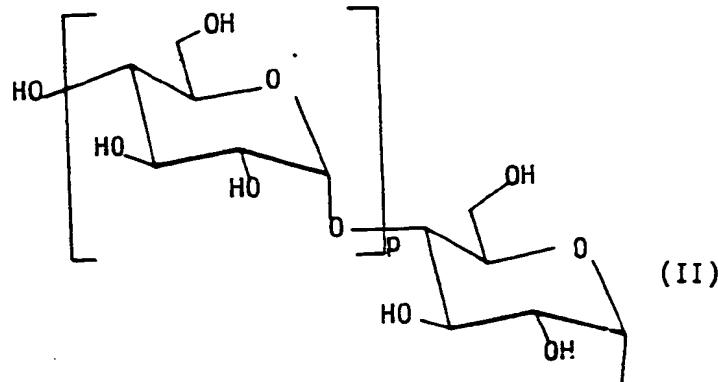


20

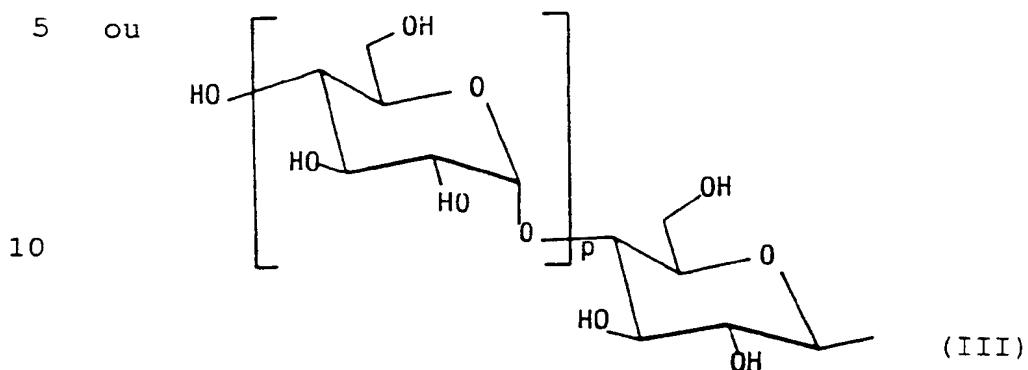
dans laquelle n est égal à 6, 7 ou 8 et les R¹ qui peuvent être identiques ou différents, représentent OH ou SR² avec R² représentant un monosaccharide ou un oligosaccharide tel qu'un groupe de formule de type (II) lorsque le monosaccharide est le D-glucose ou un 25 oligosaccharide du D-glucose lié α -(1→4) ou de formule (III) lorsque le monosaccharide est le β -D-glucose ou un oligosaccharide du D-glucose lié α -(1→4) :

30

35



5 ou



15

20 dans lesquelles p est égal à 0 ou est un nombre entier
 allant de 1 à 5, à condition qu'au moins l'un des R¹
 représente SR²,
 pour former avec celle-ci un complexe d'inclusion
 soluble dans l'eau.

25 Des dérivés de cyclodextrines de ce type ont
 été décrits dans EP-A-0 403 366 qui illustre des
 dérivés de cyclomalto-oligosaccharide synthétisés en
 vue de diverses applications utilisant ces
 cyclomaltooligosaccharides pour former des complexes
 d'inclusion avec des molécules hydrophobes par
 30 association apolaire.

35 D'autres dérivés appartenant à cette même
 famille de composés revendiqués ont été préparés plus
 récemment, tels les α -D-mannosyl- et β -D-galactosyl
 cyclodextrines décrits par C. Lancelon-Pin et H.
 Driguez dans Tetrahedron Lett., 33(1992) 3125-3128. Des
 β -glycosylamines β -cyclodextrines apparentées ont par

ailleurs été décrites dans le même temps par H. Parrot-Lopez, H. Galons, A.W. Coleman, J. Mahuteau et M. Miocque dans Tetrahedron Lett. 33(1992) 209-212 comme agent de solubilisation de médicaments, et se 5 sont trouvées également avoir des propriétés de solubilisation similaires vis-à-vis des diterpènes de la famille du taxol.

Selon l'invention, on a trouvé que parmi les dérivés de cyclomalto-oligosaccharides décrits dans 10 EP-A-0 403 366, les cyclodextrines ramifiées répondant à la formule I précitée permettaient d'améliorer la solubilité dans l'eau ainsi que la biodisponibilité d'agents antitumoraux de nature diterpénique de la famille du taxol, dont en particulier le Taxotère.

15 Selon un premier mode de réalisation de l'invention, la cyclodextrine ramifiée répond à la formule I précitée dans laquelle tous les R¹ sont identiques et représentent SR².

Des cyclodextrines ramifiées de ce type 20 peuvent être préparées par réaction des dérivés totalement substitués en position 6 par un atome d'iode des cyclodextrines correspondantes avec le sel de sodium du thiomonosaccharide ou du thiooligosaccharide correspondant au groupe R².

25 Selon un second mode de réalisation de l'invention, la cyclodextrine ramifiée utilisée répond à la formule I dans laquelle un seul R¹ représente SR², les autres R¹ représentant OH.

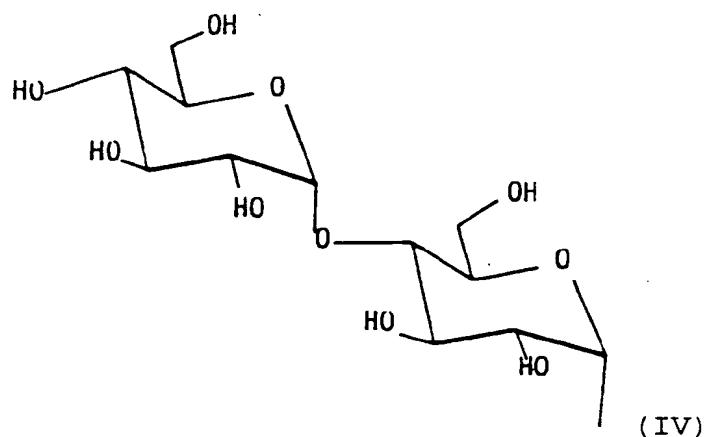
Ces cyclodextrines ramifiées peuvent être 30 préparées par réaction de la cyclodextrine correspondante substituée sur un seul cycle en position 6 par le groupe tolylsulfonyle, avec le sel de sodium du thiomonosaccharide ou du thiooligosaccharide correspondant au groupe R².

35 Dans les deux modes de réalisation de l'invention, les cyclodextrines ramifiées utilisées

correspondent de préférence à la formule I avec n=7, c'est-à-dire à la β -cyclodextrine. En effet, on a observé que les meilleurs résultats, en ce qui concerne l'augmentation de solubilité du taxol et de ses dérivés, étaient plus importants dans le cas de la β -cyclodextrine que dans le cas de l' α - et de la γ -cyclodextrine.

Selon un mode préféré de réalisation de l'invention, dans la cyclodextrine ramifiée utilisée répondant à la formule I, les groupes R² sont de préférence des groupes α -maltosyle ou β -maltosyle répondant respectivement aux formules

15



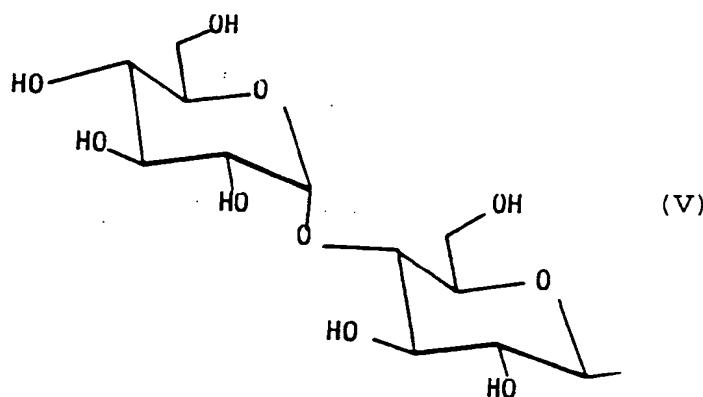
20

25

ou

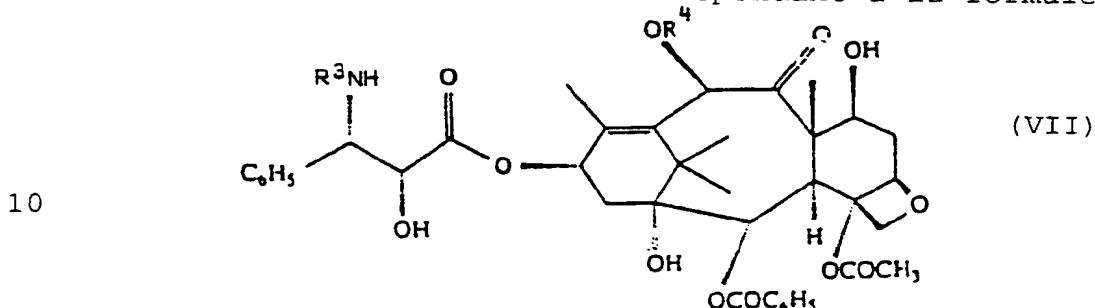
30

35



Selon l'invention, l'agent antitumoral utilisé, est un composé appartenant à la famille du taxol et de ses dérivés.

A titre d'exemple de tels agents, on peut 5 citer le taxol et le Taxotère répondant à la formule :



10 où R^3 représente $-COOC(CH_3)_3$ et R^4 représente H dans le cas du Taxotère, et R^3 représente $-COC_6H_5$ et R^4 représente $-COCH_3$ dans le cas du taxol.

Bien entendu, on peut utiliser dans l'invention, des dérivés du taxol et du Taxotère ayant la même formule de base mais des substituants différents.

20 L'invention concerne également les complexes d'inclusion d'une cyclodextrine ramifiée répondant à la formule (I) précitée avec un agent antitumoral de la famille du taxol et de ses dérivés

25 Dans ces complexes d'inclusion, on préfère également que la cyclodextrine de formule (I) soit dérivée de la β -cyclodextrine et que R^2 représente le groupe α -maltosyle ou β -maltosyle.

Ces complexes d'inclusion peuvent être 30 préparés de façon classique, par exemple par addition en ajoutant à une solution de la cyclodextrine ramifiée de formule (I) utilisée, d'une solution concentrée de l'agent antitumoral de la famille du taxol dans un solvant organique miscible à l'eau, par exemple l'acétone, suivie d'une agitation de la 35 solution homogène obtenue en la soumettant à un barbotage de gaz inerte tel que l'azote pour éliminer

la plus grande partie du solvant organique. Après élimination du solvant organique, on peut congeler la solution aqueuse, puis la lyophiliser pour isoler le complexe d'inclusion ainsi formé.

5 Pour éviter l'utilisation d'un solvant organique, on peut aussi préparer le complexe d'inclusion en dispersant l'agent antitumoral à inclure dans une solution aqueuse de la cyclodextrine ramifiée utilisée et agiter la suspension obtenue 10 jusqu'à l'obtention d'une solution claire. On peut ensuite isoler comme précédemment le complexe d'inclusion ainsi formé par congélation et lyophilisation.

15 Le complexe d'inclusion obtenu peut être utilisé dans une composition pharmaceutique comprenant ce complexe d'inclusion, avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable, en vue de l'administration de l'agent antitumoral.

20 Ces compositions pharmaceutiques qui peuvent être administrées par voie orale ou parentérale sont par exemple des solutions, des poudres, des suspensions, etc. en particulier des solutions injectables.

25 D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront mieux à la lecture des exemples suivants donnés bien entendu à titre illustratif et non limitatif, en référence aux dessins annexés.

30 Les figures 1 et 2 annexées représentent les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton à haute fréquence, de la cyclodextrine ramifiée de l'exemple 3 (figure 2) et du complexe d'inclusion de cette cyclodextrine avec le Taxotère (figure 1).

35 Exemple 1 : Préparation de l'heptakis-(6-S- α -maltosyl-6-thio)cyclomaltoheptaose (composé n° 1)

Ce composé répond à la formule (I) dans laquelle n=7 et tous les R¹ représentent SR² avec R² représentant le groupe de formule (IV). Il est préparé par réaction de

5 l'heptakis-(6-désoxy-6-iodo)cyclomaltoheptaose avec le sel de sodium du 1-thio- α -maltose.

1. Préparation de l'heptakis-(6-désoxy-6iodo)cyclomaltoheptaose

L'heptakis-(6-désoxy-6-iodo)cyclomaltoheptaose 10 est préparé par le procédé décrit par A. Gadelle et J. Defaye dans Angew Chem. Int. Ed. Engl., 30, 1991, p. 78-80.

2. Préparation du sel de sodium du 1-thio- α -maltose.

Ce sel est préparé en effectuant les étapes 15 suivantes :

a) Préparation du 2,3,6,2',3',4',6'-hepta-O-acétyl-2-hydroxymaltal

A une solution de bromure de 2,3,6,2',3',4',6'-hepta-O-acétyl- α -maltose (D.H. 20 Brauns, J. Am. Chem. Soc., 51, 1929, 1820-1831 ; 9 g, 12,8 mmol) dans du diméthylformamide (33 ml), on ajoute goutte à goutte le 1,8-diazabicyclo [5,4,0] undéc-7-ène(1,5-5)(1,95 ml, 13,11 mmol). Le mélange réactionnel est maintenu pendant 20 h à température 25 ambiante puis versé dans un mélange d'eau et de glace. Le précipité obtenu (6,04 g, rendement de 76 %) est récupéré par filtration, séché dans un dessicteur et recristallisé dans un mélange éthanol-eau.

Les caractéristiques de ce produit sont les 30 suivantes :

F : 122-123°C

$[\alpha]_D$: + 68° (c 1,3, chloroforme)

b) Préparation du 2,3,6,2',3',4',6'-hepta-O-acétyl-1-S-acétyl-1-thio- α -maltose

35 A une solution de 2 g (2, 34 mmol) de l'hepta-O-acétyl-2-hydroxymaltal obtenu précédemment,

dans 50 ml d'acétone, on ajoute 12 ml (168 mmol) d'acide thioacétique et goutte à goutte, l'hydroperoxyde de cumène. La solution est agitée pendant 40 h sous atmosphère d'azote, à température ambiante, puis concentrée à 20°C. Le résidu solide est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (acétate d'éthyle-hexane 1:1, v/v). On obtient 1,09 g (rendement 49 %) d'une poudre blanche, présentant un pouvoir rotatoire $[\alpha]_D$ de +139° (c 0,46, chloroforme).

c)) Préparation du sel de sodium du 1-thio- α -maltose

A une solution de 2,1 g (3,03 mmol) de l'hepta-O-acétyl-1-thioacetyl- α -maltose obtenu précédemment, dans 11 ml de chloroforme à -15°C, on ajoute du méthanolate de sodium (0,65 mol/l, 19 ml, 12,35 mmol) avec agitation et on maintient la réaction à -15°C pendant 15 min. Le thiolate qui précipite est séparé par filtration, lavé au chloroforme et séché dans un dessicateur. Il est utilisé sans autre purification ni caractérisation.

3. Préparation du composé n° 1

A une solution de l'heptakis-(6-désoxy-6-iodo)cyclomaltoheptaose obtenu dans l'étape 1) (0,5 g, 0,26 mmol) dans la 1,3-diméthyl-2-oxohexahydropyrimidine (30 ml), on ajoute le sel de sodium du 1-thio- α -maltose (1,05 g, 2,76 mmol) obtenu en 2. Le mélange réactionnel est chauffé à 70°C sous atmosphère d'azote pendant 18 heures, puis refroidi et additionné d'acétone. Le précipité obtenu est séparé par filtration, lavé par l'acétone et séché sous vide. Il est ensuite dissous dans l'eau et purifié par ultrafiltration tangentielle (appareil Millipore, Minitan-S muni d'une membrane d'acétate de cellulose PCAC 1K). Le séchage de la solution par lyophilisation de la solution aqueuse

résultante donne 0,89 g du composé n°1 (rendement 96 %).

Ce composé présente les caractéristiques suivantes :

5

- $[\alpha]_D$: + 164° (c 1,1, H₂O) ;

- spectre de masse (FAB⁺) : m/z 3539,3 (65, [M+Na]⁺), 3180,2 (72, [M-C₁₂H₂₁O₁₀S+Na]⁺), 2823 (82, [M-2(C₁₂H₂₁O₁₀S)+Na]⁺).

10

Exemple 2 : Préparation de l'heptakis-(6-S-β-maltosyl-6-thio)-cyclomaltoheptaose (composé n° 2)

Ce composé répond à la formule (I) dans laquelle n est égal à 7 et tous les R¹ représentent SR² avec R² étant le groupe de formule (V).

15

On suit le mode opératoire de l'Exemple 1 pour préparer ce composé en partant d'heptakis(6-désoxy-6-iodo)-cyclomaltoheptaose (0,5 g, 0,26 mmol) et du sel de sodium du 1-thio-β-maltose (0,61 g, 2,76 mmol) préparé comme il est décrit par M. Mori et al. dans Chem. Pharm. Bull., 22, 1974, 1331-1338.

20

On obtient ainsi 0,67 g (rendement de 75 %) du composé n° 2. Ce composé présente les caractéristiques suivantes :

25

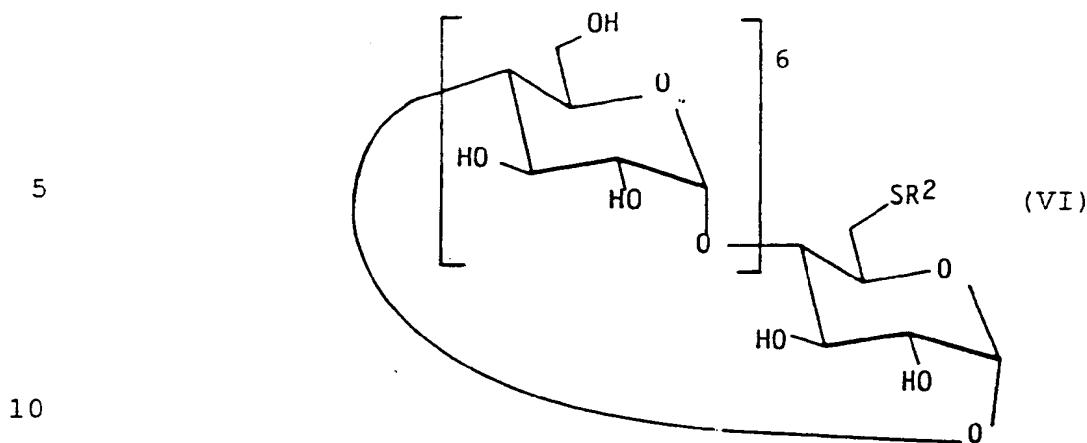
- $[\alpha]_D$: + 76° (c 0,97, eau) ;

- spectre de masse (FAB⁺) : m/z 3554,6 (29,5, [M+K]⁺), 3197,3 (47,5 [M-C₁₂H₂₁O₁₀S+Na]⁺).

Exemple 3 : Préparation du 6¹-S-α-maltosyl-6-1-thiocyclomaltoheptaose (composé n° 3)

Ce composé répond à la formule

30



avec R² étant le groupe de formule (IV).

A une solution de 0,62 g (0,48 mmol) de 6¹-O-p-tolylsulfonyl-cyclomaltoheptaose préparé comme il est décrit par J. Defaye, A. Gadelle, A. Guiller, R. Darcy et T. O'Sullivan, dans Carbohydr. Res., 192, 1989, p. 251-258, dans 3 ml de 1,3-diméthyl-2-oxohexahydropyrimidine, on ajoute 0,27 g (0,72 mmol) du sel de sodium du 1-thio- α -maltose. La solution est chauffée à 50°C pendant 18 heures sous atmosphère d'azote, puis refroidie et additionnée d'acétone. Le précipité obtenu est séparé par filtration, lavé à l'acétone et séché sous vide. Il est ensuite redissous dans l'eau et la solution est débarrassée des sels minéraux par passage sur une colonne de résine mixte MB-6113. Le séchage par lyophilisation de la solution aqueuse donne un solide (0,65 g) qui montre en CLHP (colonne Nucléosil C-18, 5 μ ; éluant MeOH--eau 3/22) un composant majoritaire; Ce composant est obtenu en CLHP préparative en utilisant les mêmes conditions de passage, sous forme d'une poudre blanche (0,46 g, rendement de 65 %).

Il présente les caractéristiques suivantes :

- F : 283°C(déc.),
- [α]_D : + 170° (c 1, eau) ;

- spectre de masse (FAB^+) : m/z 1497(100),
 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 1139(27, $[\text{M}-\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{O}_{10}\text{S}+\text{Na}]^+$).

Exemple 4 : Préparation du $6^1\text{-S-}\beta$ -maltosyl- $6^1\text{-thiocyclomaltoheptaose (composé n° 4)}$

5 Ce composé répond à la formule (VI) avec R^2 étant le groupe de formule (V).

On suit le mode opératoire de l'Exemple 3 pour préparer ce composé en partant de 1,86 g (1,44 mmol) de $6^1\text{-O-p-tolylsulfonyl-cyclomaltoheptaose}$ et de 10 0,82 g (1,5 mmol) du sel de sodium du 1-thio- β -maltose, dans 9 ml de la 1,3-diméthyl-2-oxohexahydropyrimidine. Après 18 heures de chauffage à 60°C , le mélange réactionnel est traité comme dans l'Exemple 3. La purification par CLHP préparative du produit de la réaction conduit à 1,32 g 15 (rendement de 62 %) d'un solide blanc qui présente les caractéristiques suivantes :

- $\text{F} : 285^\circ\text{C}$
- $[\alpha]_D : + 84^\circ$ (c 1, eau)

20 Exemple 5 : Encapsulation du Taxotère dans le $6^1\text{-S-}\alpha$ -maltosyl- $6^1\text{-thiocyclomaltoheptaose (composé n° 3)}$.

On part d'une solution concentrée de Taxotère dans un solvant miscible à l'eau, constitué par de l'acétone, et on ajoute la quantité de solution 25 concentrée correspondant à 0,75 μmol de Taxotère à 500 μl d'une solution à 10 mmol/l du composé n° 3 dans de l'eau stérile, à la température ambiante. On soumet la solution homogène ainsi obtenue à une agitation, tout en introduisant par barbotage un lent courant 30 d'azote destiné à éliminer la plus grande partie de l'acétone. Après 2 heures, on congèle la solution aqueuse et on la lyophilise. On obtient ainsi un solide de composition parfaitement définie qui correspond à l'inclusion du Taxotère dans le composé 35 n° 3.

Le spectre de résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton de ce produit à une concentration de 10 mmol/l (1,8 mmmol/l de Taxotère) dans D₂O, à 298K et 500 MHz, est représenté sur la figure 1. Sur la 5 figure 2, on a représenté à titre comparatif le spectre RMN du composé n° 3 en l'absence de Taxotère dans les mêmes conditions.

En comparant ces deux figures, on remarque une 10 modification du spectre du composé n° 3 au niveau du signal des H-3, qui confirme l'encapsulation du Taxotère dans ce composé.

Exemple 6 : Encapsulation du Taxotère dans le composé n° 3.

Dans cet exemple, on part du Taxotère à l'état 15 pur et on disperse 6 mg (7,5 µmol) de ce produit dans 5 ml d'une solution contenant 10 mmol/l du composé n°3 dans l'eau stérile, puis on agite la suspension obtenue à la température ambiante jusqu'à l'obtention 20 d'une solution claire qui indique l'encapsulation du Taxotère dans la molécule de cyclodextrine.

La lyophilisation de cette solution fournit, comme précédemment, un solide de composition parfaitement définie, présentant la même structure que celui obtenu dans l'Exemple 5.

25 Dans les deux cas, la solubilité dans l'eau du Taxotère peut être amenée à 8 mmol/l (6,5 g/l) dans une solution aqueuse à 48 mmol/l du composé n° 3. On obtient ainsi une augmentation importante de la solubilité du Taxotère, celle-ci étant de l'ordre de 30 0,004 g/l en l'absence de cyclodextrine.

Exemple 7 : Encapsulation du Taxotère dans le composé n° 4.

On suit le même mode opératoire que dans l'exemple 5 pour encapsuler le Taxotère dans le 35 composé n° 4.

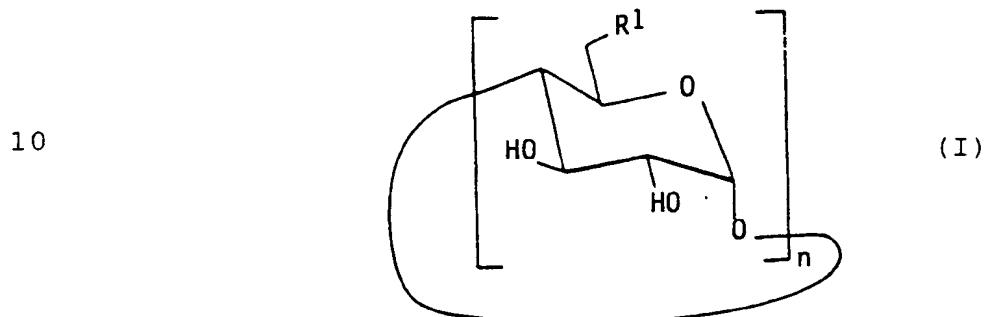
On obtient également un produit solide de composition parfaitement définie que l'on peut dissoudre dans l'eau. Toutefois, ce produit présente une solubilité dans l'eau légèrement inférieure à celle du complexe d'inclusion obtenu avec le composé n° 3 dans lequel le substituant R² présente l'anomérie α.

Bien que les exemples se rapportent au Taxotère, il va de soi que l'invention s'applique de 10 la même façon au taxol et à d'autres dérivés du taxol.

En effet, on observe avec le taxol et d'autres dérivés des résultats analogues.

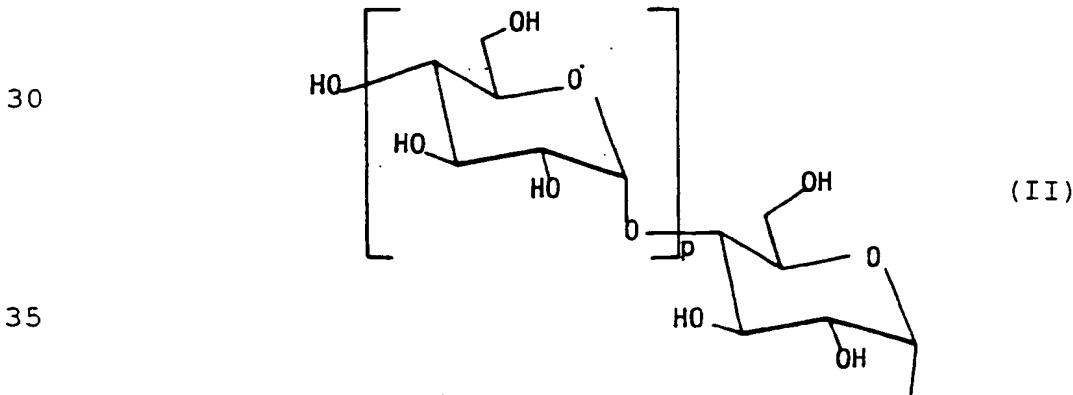
REVENDICATIONS

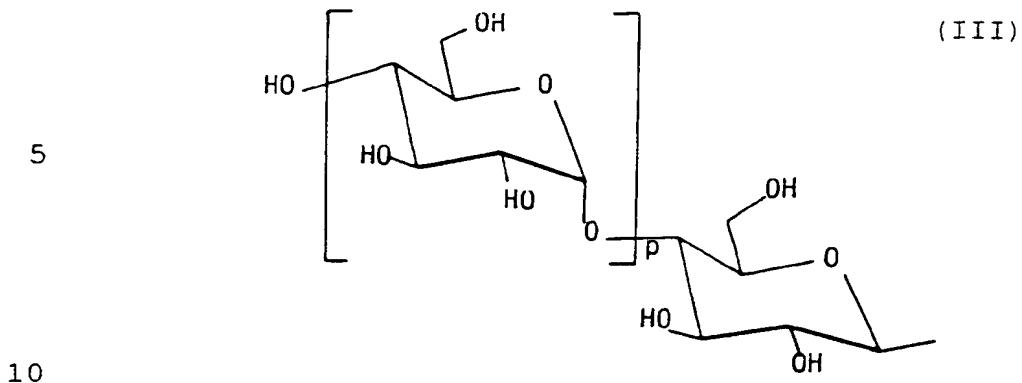
1. Procédé de solubilisation dans un milieu aqueux d'un agent antitumoral appartenant à la famille du taxol et de ses dérivés, caractérisé en ce qu'il
 5 consiste à combiner cet agent antitumoral avec une cyclodextrine ramifiée de formule :



15 dans laquelle n est égal à 6, 7 ou 8 et les R¹ qui peuvent être identiques ou différents, représentent OH ou SR² avec R² représentant un monosaccharide ou un oligosaccharide, à condition qu'au moins l'un des R¹ représente SR²,
 20 pour former avec celle-ci un complexe d'inclusion soluble dans l'eau.

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que R² répond à la formule II lorsque le monosaccharide est le D-glucose ou des
 25 résidus D-glucose liés α -(1→4) ou à la formule III lorsque le monosaccharide est le β -D-glucose ou un oligosaccharide du D-glucose lié α (1→4)





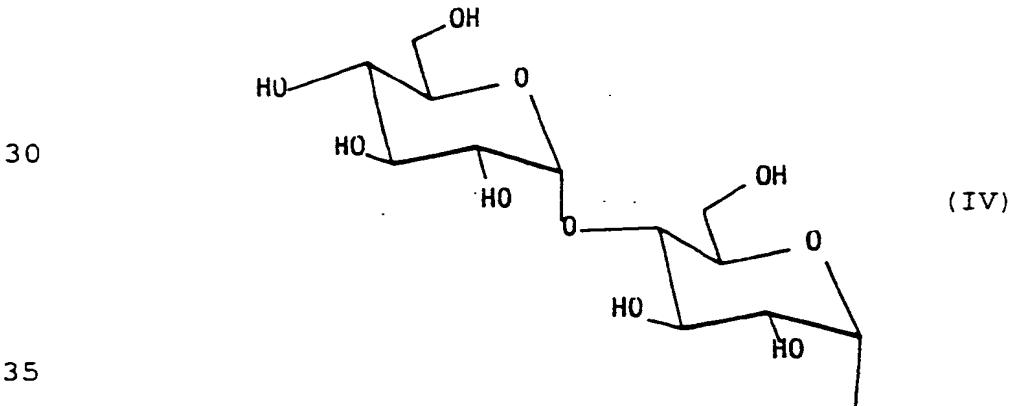
dans lesquelles p est égal à 0 ou est un nombre entier allant de 1 à 5

3. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 et 2, caractérisé en ce que tous les R¹ sont identiques et représentent SR².

4. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 et 2, caractérisé en ce qu'un seul R¹ représente SR², les autres R¹ représentant OH.

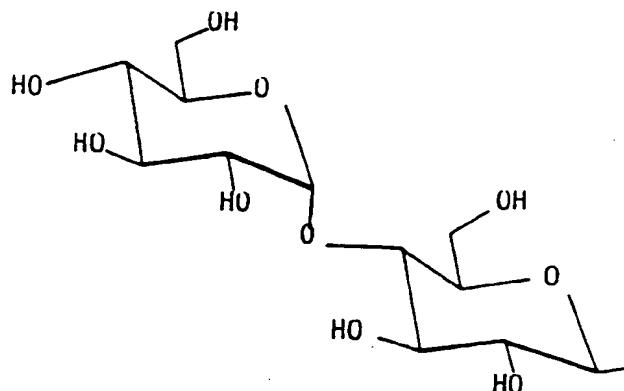
5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que n est égal à 7.

6. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que R² représente un groupe de formule :



5

ou
10



(V)

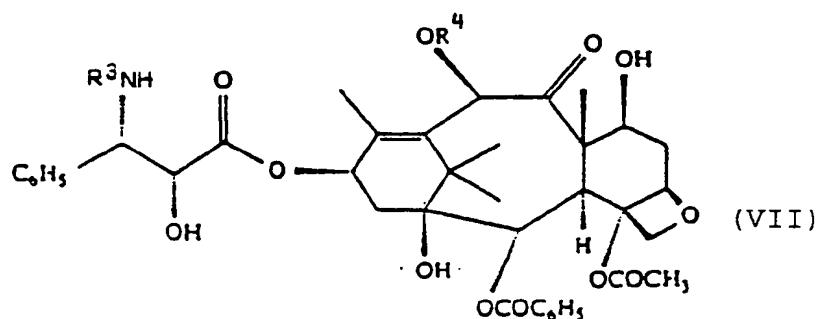
15

20

7. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que l'agent antitumoral est le Taxotère de formule :

25

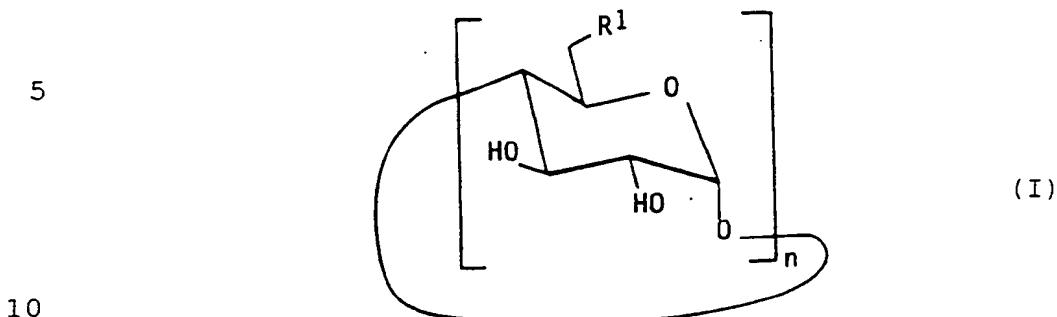
30



(VII)

dans laquelle R³ représente -COOC(CH₃)₃ et R⁴
35 représente H.

8. Complexe d'inclusion d'une cyclodextrine ramifiée de formule



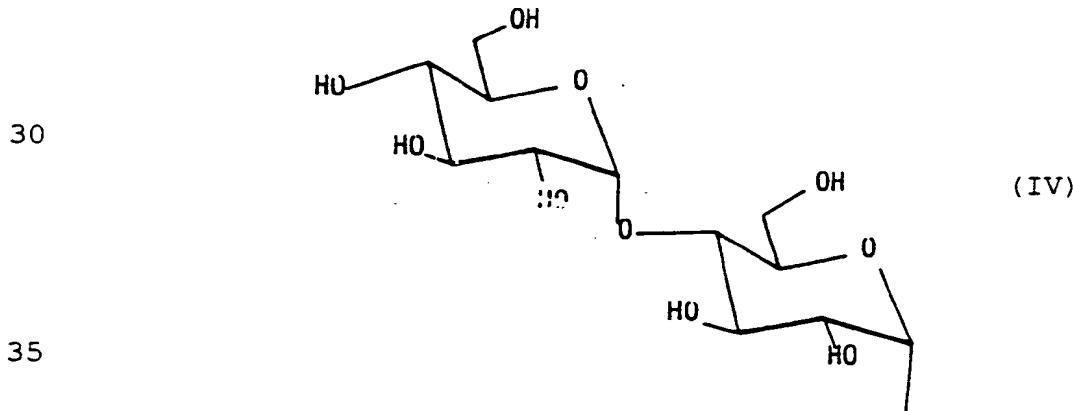
dans laquelle n et R¹ ont les significations données dans la revendication 1 ou 2, avec un agent antitumoral de la famille du taxol et de ses dérivés.

15 9. Complexe d'inclusion selon la revendication 8, caractérisé en ce que tous les R¹ sont identiques et représentent SR².

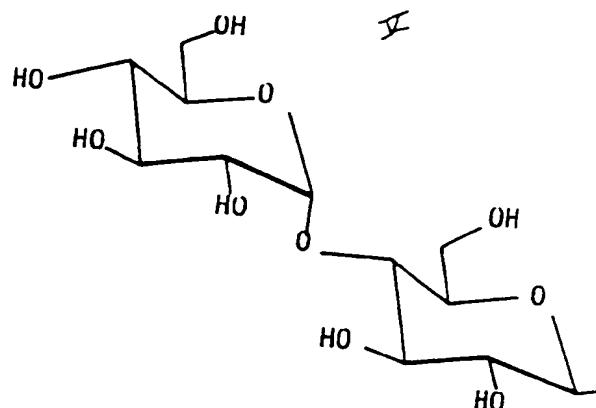
10. Complexe d'inclusion selon la revendication 8, caractérisé en ce qu'un seul R¹ 20 représente SR², les autres R¹ représentent OH.

11. Complexe d'inclusion selon l'une quelconque des revendications 8 à 10, caractérisé en ce que n est égal à 7.

12. Complexe d'inclusion selon l'une 25 quelconque des revendications 8 à 11, caractérisé en ce que R² est un groupe répondant à la formule



5

ou
10

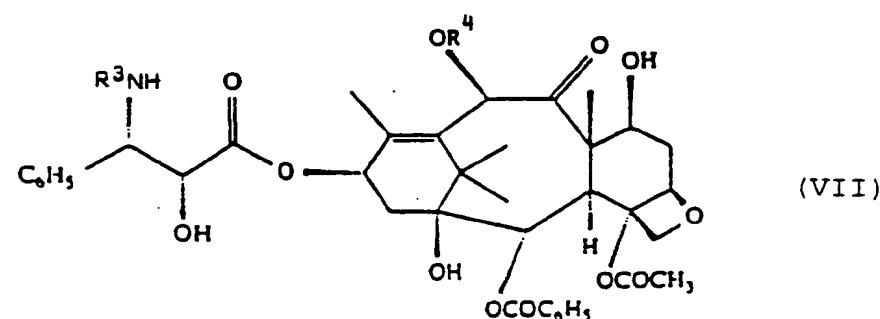
15

(V)

20

13. Complexe d'inclusion selon l'une
quelconque des revendications 8 à 12, caractérisé en
25 ce que l'agent antitumoral est le Taxotère de formule

30



35

.20

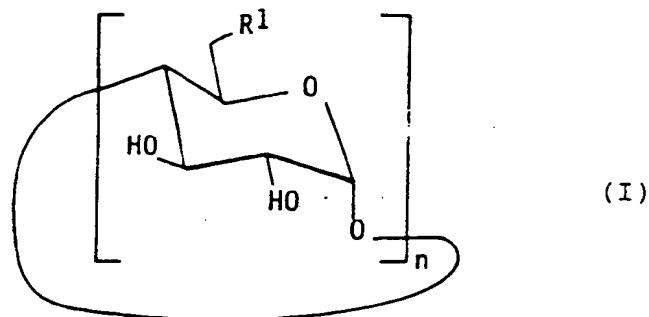
dans laquelle R^3 représente $-COOC-CH_3)_3$ et R^4 représentent H.

14. Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend un complexe d'inclusion d'une cyclodextrine ramifiée selon l'une quelconque des revendications 8 à 13 avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

15. Cyclodextrine ramifiée répondant à la formule :

10

15

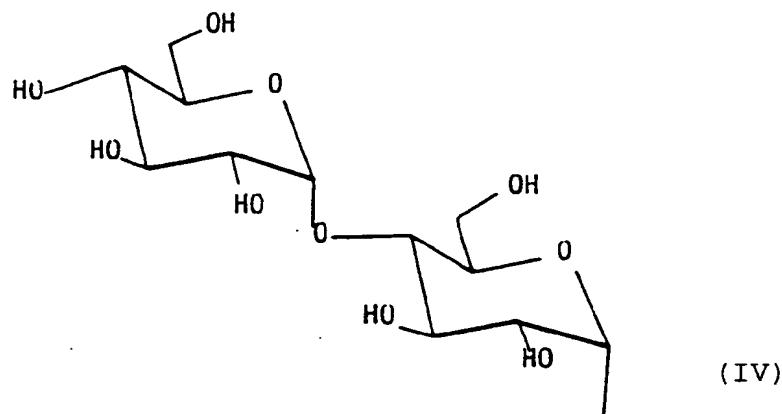


20 dans laquelle n est égal à 7 et tous les R^1 représentent SR^2 avec R^2 représentant un groupe de formule

25

30

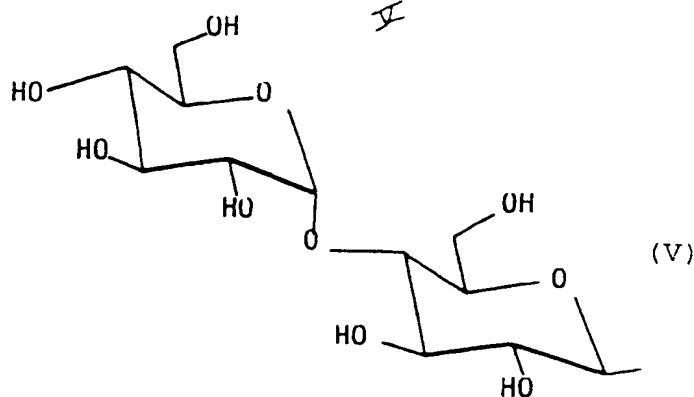
35



21

ou

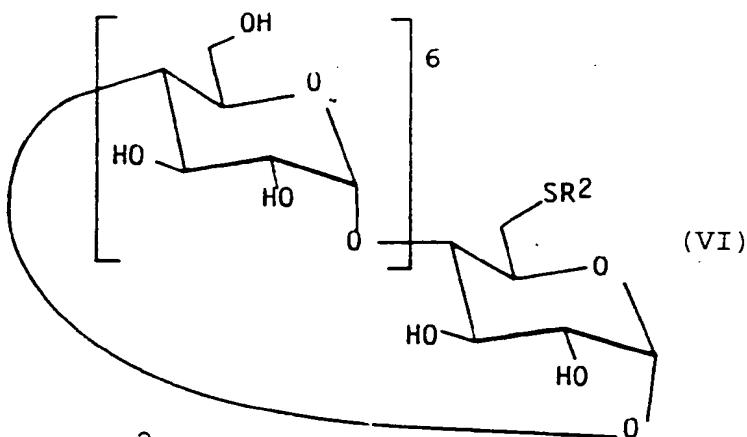
5



10

16. Cyclodextrine ramifiée répondant à la
15 formule

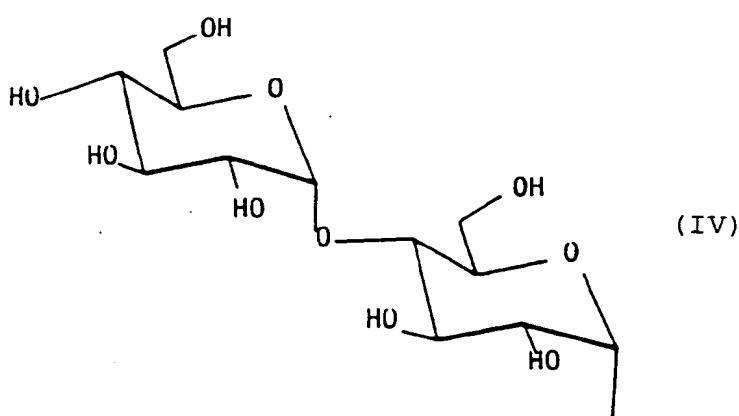
20

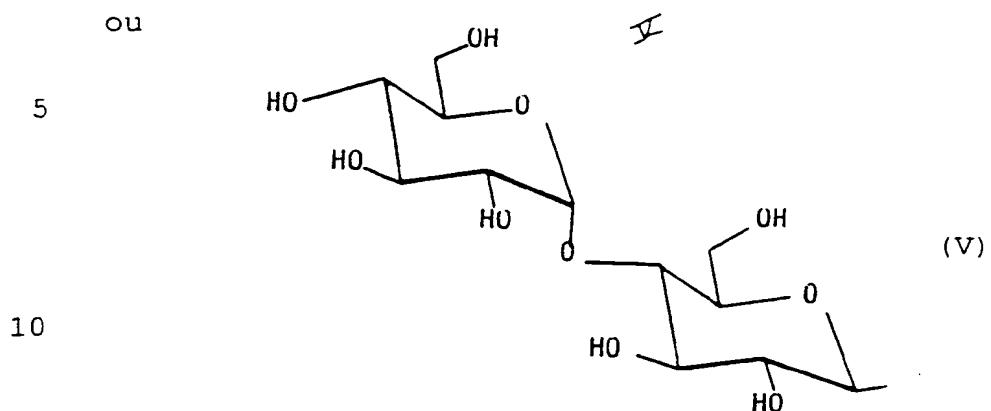


25 dans laquelle R² représente un groupe répondant à la
formule

30

35





1/1

FIG. 1

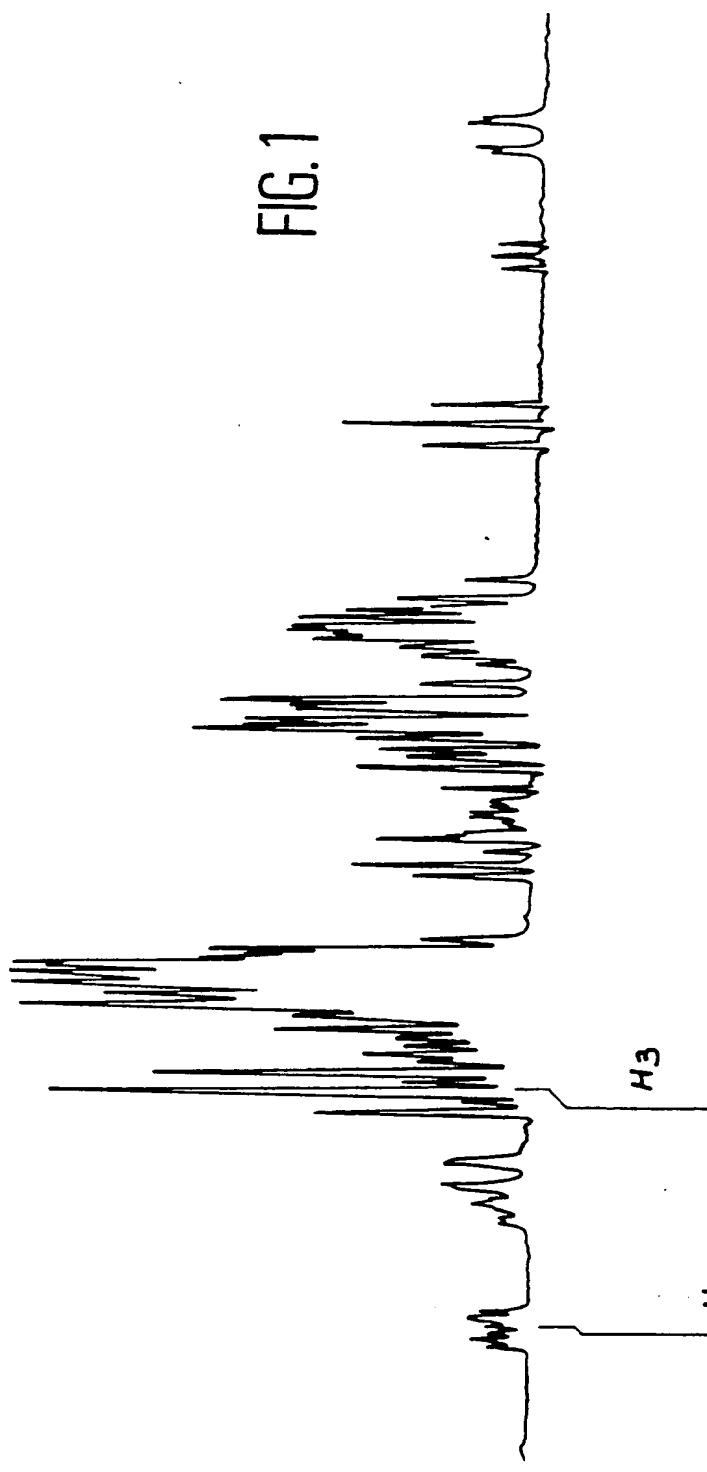
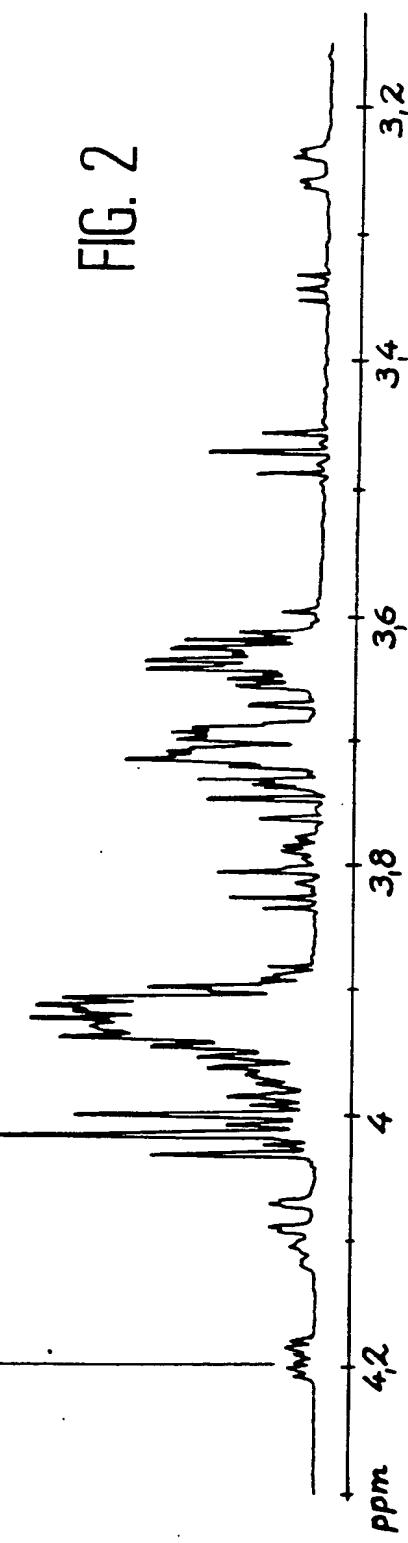


FIG. 2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR 95/00075

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 C08B37/16 A61K47/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 C08B A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP,A,0 403 366 (COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE) 19 December 1990 cited in the application see page 3, line 10 - line 17 see page 3, line 44 - page 5, line 11 see page 5, line 17 - line 20 see page 5, line 28 - line 30 see page 6, line 29 - line 33 see page 12, line 16 - line 18 see page 13, line 33 - line 38 see page 13, line 42 - line 45 --- EP,A,0 519 428 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIE) 23 December 1992 see page 6, line 15 - line 38 see page 7, line 15 - line 18 --- -/-/	1-16
A		1-16

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

1

Date of the actual completion of the international search 17 May 1995	Date of mailing of the international search report 08.06.95
--	--

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mazet, J-F

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l. Application No.	PCT/FR 95/00075
------------------------	-----------------

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO,A,92 09589 (RHONE-POULENC RORER S.A.) 11 June 1992 see abstract see page 37, line 29 - page 38, line 7 ---	1,7,8,13
P,A	INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS, vol. 108,no. 1, 1994 NL, pages 69-75, T. CSERHATI ET J. HOLLO 'Interaction of taxol and other anticancer drugs with hydroxypropyl-B-cyclodextrin' see abstract ---	1,7,8, 13,14
P,A	EP,A,0 605 753 (ENSIKO SUGAR REFINING COMPANY LIMITED) 13 July 1994 see abstract see page 2, line 45 - line 47 -----	1,7,8, 13,14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 95/00075

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP-A-0403366	19-12-90	FR-A- DE-D-	2648464 69017091	21-12-90 30-03-95
EP-A-0519428	23-12-92	CA-A- JP-A-	2071623 5178765	22-12-92 20-07-93
WO-A-9209589	11-06-92	FR-A- FR-A- AT-T- AU-B- AU-A- CA-A- CZ-A- DE-D- DE-T- EP-A- EP-A- ES-T- FI-A- JP-T- NZ-A- NZ-A-	2669631 2679557 111905 655618 9083891 2096833 9300965 69104223 69104223 0558623 0595370 2059207 932331 6504771 240698 247867	29-05-92 29-01-93 15-10-94 05-01-95 25-06-92 24-05-92 16-02-94 27-10-94 26-01-95 08-09-93 04-05-94 01-11-94 21-05-93 02-06-94 26-08-94 26-08-94
EP-A-605753	13-07-94	JP-A- AU-B- CA-A- HU-A-	6157330 645927 2092979 65835	03-06-94 27-01-94 28-05-94 28-07-94

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem. : Internationale No

PCT/FR 95/00075

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 6 C08B37/16 A61K47/48

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 6 C08B A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications vistées
A	EP,A,0 403 366 (COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE) 19 Décembre 1990 cité dans la demande voir page 3, ligne 10 - ligne 17 voir page 3, ligne 44 - page 5, ligne 11 voir page 5, ligne 17 - ligne 20 voir page 5, ligne 28 - ligne 30 voir page 6, ligne 29 - ligne 33 voir page 12, ligne 16 - ligne 18 voir page 13, ligne 33 - ligne 38 voir page 13, ligne 42 - ligne 45 ---	1-16
A	EP,A,0 519 428 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIE) 23 Décembre 1992 voir page 6, ligne 15 - ligne 38 voir page 7, ligne 15 - ligne 18 ---	1-16 -/-

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- *&* document qui fait partie de la même famille de brevets

1 Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée
17 Mai 1995

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
08.06.95

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Mazet, J-F

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Den. Internationale No
PCT/FR '95/00075

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO,A,92 09589 (RHONE-POULENC RORER S.A.) 11 Juin 1992 voir abrégé voir page 37, ligne 29 - page 38, ligne 7 ---	1,7,8,13
P,A	INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS, vol. 108,no. 1, 1994 NL, pages 69-75, T. CSERHATI ET J. HOLLO 'Interaction of taxol and other anticancer drugs with hydroxypropyl-B-cyclodextrin' voir abrégé ---	1,7,8, 13,14
P,A	EP,A,0 605 753 (ENSUIKO SUGAR REFINING COMPANY LIMITED) 13 Juillet 1994 voir abrégé voir page 2, ligne 45 - ligne 47 -----	1,7,8, 13,14

1

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Derr. : Internationale No
PCT/FR 95/00075

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
EP-A-0403366	19-12-90	FR-A- 2648464 DE-D- 69017091		21-12-90 30-03-95
EP-A-0519428	23-12-92	CA-A- 2071623 JP-A- 5178765		22-12-92 20-07-93
WO-A-9209589	11-06-92	FR-A- 2669631 FR-A- 2679557 AT-T- 111905 AU-B- 655618 AU-A- 9083891 CA-A- 2096833 CZ-A- 9300965 DE-D- 69104223 DE-T- 69104223 EP-A- 0558623 EP-A- 0595370 ES-T- 2059207 FI-A- 932331 JP-T- 6504771 NZ-A- 240698 NZ-A- 247867		29-05-92 29-01-93 15-10-94 05-01-95 25-06-92 24-05-92 16-02-94 27-10-94 26-01-95 08-09-93 04-05-94 01-11-94 21-05-93 02-06-94 26-08-94 26-08-94
EP-A-605753	13-07-94	JP-A- 6157330 AU-B- 645927 CA-A- 2092979 HU-A- 65835		03-06-94 27-01-94 28-05-94 28-07-94

THIS PAGE BLANK (USPTO)